

ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ АЛКАЛОИДОВ ЧИСТОТЕЛА В ТЕЧЕНИЕ ВЕГЕТАЦИИ

Погоцкая А.А., Бузук Г.Н., Пытляк Т.Н.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Алкалоиды представляют собой большую группу азотсодержащих природных соединений, главным образом растительного происхождения, основного характера, обладающих высокой физиологической активностью. Благодаря высокой физиологической активности алкалоиды используются для приготовления целого ряда лекарственных препаратов. В настоящее время число выделенных из растений алкалоидов с установленной структурой превышает 6 000 соединений.

Актуальной задачей является исследование алкалоидов в течение жизненного цикла растений при прохождении последовательных этапов индивидуального развития, определение сезонных, суточных и даже часовых колебаний в их содержании, изучение распределения алкалоидов по органам растений. Выявление взаимосвязи изменчивости алкалоидного спектра с отдельными фазами развития растений позволяет заготавливать ЛРС с преимущественным содержанием того или иного конкретного алкалоида. Это является особенно важным, так как чаще всего в растении содержится не одно конкретное соединение, а целый комплекс действующих веществ, зачастую с различной фармакологической активностью. Так, в сырье чистотела большого (*Chelidonium majus*) по данным исследований, основными действующими веществами является комплекс алкалоидов, который представлен соединениями с различной химической структурой и фармакологической активностью. Количественно преобладают бензфенантридины — хелидонин (0,3-1,0%), гомахелидонин (0,3-4%), сангвинарин (0,2-0,4 %) и хелеритрин (0,1-0,3 %), в меньших количествах содержатся протопины — протопин (0,2-0,4 %) и аллокриптопин (0,1 %) и протоберберины — берберин (0,1-0,3 %), коптизин (0,2 %), стилопин (0,04-0,11) и др. Изучено фармакологическое и химиотерапевтическое действие названных групп алкалоидов: седативное, анестезирующее, спазмолитическое, фунгицидное и фунгистатическое, противовирусное, антибактериальное, противоопухолевое и цитостатическое, гипотензивное и антигистаминное, анальгетическое.

В подавляющем большинстве литературных источников, посвященных изучению динамики накопления алкалоидов в чистотеле большом, проводилось определение суммы алкалоидов. Вместе с тем,

представляет существенный интерес изучение динамики накопления не суммы, а отдельных алкалоидов, т.к. разные алкалоиды в значительной степени различаются фармакологическими свойствами.

Целью нашей работы явилось изучение динамики накопления основных алкалоидов в листьях чистотела большого в течение вегетации.

В качестве объекта исследования использовали листья чистотела, собранные в течение апреля – мая 2002 г в окрестностях г. Витебска. Собранные образцы, состоящие из 20-30 растений, высушивали в тени в подвешенном состоянии, а затем измельчали до размера частиц около 2 мм.

Для определения содержания алкалоидов (коптизина, хеледонина, хелеритрина и сангвинарина) был применен метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Исследование выполняли на микроколоночном жидкостном хроматографе «Миличром-4» с УФ-спектрофотометрическим детектором. Разделение проводили на колонках с привитыми гексадецильными группами (Диасорб-110-С₁₆-Т, «БиоХимМак», Россия), подвижная фаза – 0,02М водный раствор КН₂РО₄ (рН 3,0-3,5)-ацетонитрил в соотношении (65-60):(35-40) по объему с добавлением 10⁻³ моль/л додецилсульфата натрия в качестве ион-парного реагента. Детекция осуществлялась при $\lambda_{\text{max}}=288$ нм (общая длина волны для бензофенантридинового цикла, детектируются все перечисленные алкалоиды).

Выделение и определение алкалоидов проводили следующим образом. Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито по ГОСТ 214-83 с отверстиями диаметром 0,5 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в коническую плоскодонную колбу вместимостью 50 мл с притертой пробкой, прибавляли 1 мл 25% раствора аммиака, тщательно размешивая стеклянной палочкой до получения однородной увлажненной массы, закрывали пробкой и оставляли при комнатной температуре на 30 мин. Затем в колбу прибавляли 25 мл (V1) хлороформа, закрывали пробкой и оставляли стоять на 15 ч. По истечении указанного срока содержимое колбы перемешивали в течение 15 мин., отстаивали в течение 20 мин. и фильтровали через стеклянный фильтр. Затем отбирали пипеткой 10 мл (V2) фильтрата, переносили в круглодонную колбу вместимостью 50 мл и растворитель отгоняли досуха под вакуумом при температуре водяной бани около 50 °С.

Сухой остаток растворяли в 20 мл 5% водного раствора уксусной кислоты при нагревании на водяной бане, а затем охлаждали в течение 10-15 мин. Полученный раствор количественно переносили в

мерную колбу на 25 мл, доводили до метки (V_3) и центрифугировали в течение 10 мин при 8 000 -10 000 об/мин.

5 мкл = 0,005 мл (V_4) центрифугата использовали для ВЭЖХ. Содержание индивидуальных алкалоидов, в том числе сангвинарина, хелеритрина, хелидонина, коптизина и аллокриптопина рассчитывали по калибровочным графикам, построенным по препаратам чистых алкалоидов.

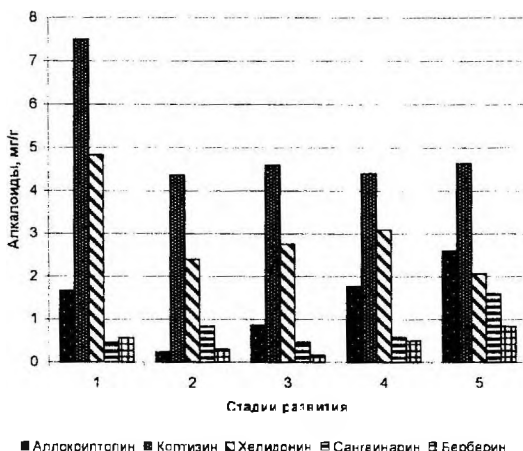


Рис. 2. Динамика накопления основных алкалоидов в листьях и траве чистотела.

Обозначения:

Стадии развития: 1 – отрастание (10 апреля 2002);
 2 – стеблевание (20 апреля 2002);
 3 – начало цветения (2 мая 2002);
 4 – цветение (14 мая 2002);
 5 – плодоношение (21 мая 2002).

Полученные данные представлены на рисунке. Видно, что на всем протяжении вегетации основным алкалоидом растения является *коптизин*. Его содержание максимально в начале отрастания чистотела. Затем содержание коптизина несколько снижается и далее сохраняется примерно на одном уровне.

Вторым по количеству является хелидонин. Максимальное содержание хелидонина, также как и коптизина, наблюдается в начале отрастания. Затем его содержание несколько снижается, потом увели-

чивается, достигая максимума в период цветения, а затем снова снижается.

Содержание аллокриптопина и берберина наибольшее в начале и в конце вегетации и минимальное в период стеблевания.

Содержание сангвинарина, минимальное в начале вегетации, постепенно повышается и достигает максимума в период плодоношения.

Таким образом, основным и преобладающим по количеству алкалоидом в надземной части чистотела является протобербериновый алкалоид коптизин. Вторым доминирующим алкалоидом является хелидонин.

Наибольшее количество коптизина, хелидонина и аллокриптопина накапливается в начале вегетации (стадия отрастания), в то время как берберина и сангвинарина в конце вегетации (стадия плодоношения)